



Title	Essential role of endothelial T-cadherin in the transcytosis of circulating high-molecular-weight adiponectin to sub-vascular tissues
Author(s)	塩出, 俊亮
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105691
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	塩出 俊亮
論文題名 Title	Essential role of endothelial T-cadherin in the transcytosis of circulating high-molecular-weight adiponectin to sub-vascular tissues (血中高分子量アディポネクチンのトランスサイトシスにおける内皮T-cadherinの重要な役割)
論文内容の要旨 〔目的(Objective)〕 脂肪細胞特異的分泌蛋白である多量体アディポネクチン (APN) は、GPIアンカー型タンパクであるT-cadherin (Tcad) との高親和性かつ特異的な結合により組織集積し、その臓器保護効果を発揮する。しかし、血中の高分子量・多量体APNがどのようにして血管外の組織や細胞に到達しその作用を発揮するかは未解明である。本研究では各組織/細胞のTcadがAPNの生体内動態に及ぼす影響を明らかにし、APNの組織輸送機構を解明することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 各種CreマウスとTcad floxマウスを交配し、細胞特異的なTcad欠損マウスを構築した。まず、Tamoxifen誘導的な全身性Tcad欠損マウス (Ubiquitin-CreERT2/Tcad flox) において、血中APN濃度はCre誘導後6週にかけて経時的に顕著に上昇することを見出した。次に、Cre誘導後6週の時点で、血管内皮細胞特異的Tcad欠損マウス (VE-cadherin-CreERT2/Tcad flox) (E-TKO) では顕著な血中APN濃度の上昇を認めた一方、骨格筋・心筋細胞特異的Tcad欠損マウス (MCK-Cre/Tcadflox) では血中APN濃度に有意な変化はなかった。これらの結果から、血管内皮細胞のTcadがAPNの生体内での挙動に強く影響することが明らかとなった。 そこで、APN欠損・E-TKOマウスと対象のTcad floxマウスにAPN含有血漿を静注し、血管内皮Tcadによる血中APNの血管外組織への輸送の可能性を評価した。投与6時間の時点で対象マウスでは血中にAPNはほとんど検出されなかった一方で、APN欠損・E-TKOマウスの血中では特に18量体APNが有意に残存していた。また、血管内皮Tcadの欠損により血管内皮でのAPN集積は18量体、6量体いずれも有意に減少していたが、興味深いことに骨格筋細胞および心筋細胞においてもAPNの集積は対象マウスに比して著明に低下し、特に18量体APNが有意に減少していることが明らかとなった。 さらに、APNの集積低下がみられたE-TKOマウスの心組織に対してRNA-seq解析を行った結果、GSEAにおいてE-TKOマウスでは心筋収縮の経路が抑制される一方、心肥大に関連する経路が活性化されていることが明らかとなった。また、血管内皮におけるTcad欠損はIrf7やIsg15などの1型インターフェロンシグナルに関与する遺伝子群の発現を有意に上昇させるとともに、Col4aやFn1などの心線維化に関連する遺伝子群の有意な発現上昇が見出された。 続いて、APNの細胞内輸送機構におけるTcadの寄与を解明するため、Transwell上で極性培養したMDCK細胞を用いて検討した。MDCK細胞にTcad発現はみられなかったが、レンチウイルスにより恒常的にTcadを発現させることでapical側に添加されたAPNは細胞内に取り込まれ、basolateral側へ輸送されることを免疫染色で見出した。さらに、Tcadの発現によりapical側からbasolateral側のwellへの18量体APNの輸送が顕著に促進されることを、ELISAおよびWestern blotで明らかとした。また、APNの細胞内輸送経路を確認するため、エンドソームマーカーとの免疫染色を行ったところ、細胞内のAPNはリサイクリングエンドソームマーカーであるRab11と共局在していた。さらに、Tcadを発現させたRab11欠損・MDCK細胞では、basolateral側のwellへの18量体APNの輸送は有意に抑制され、Rab11欠損・MDCK細胞へのレンチウイルスを用いたRab11A rescueにより18量体APNの輸送が有意に改善することから、Rab11依存的なリサイクリングエンドソーム経路を介した細胞輸送の関与が示唆された。さらに、細胞内に取り込まれたAPNの一部はlate endosome/MVBを経由してlysosomeに到達し分解される経路も示された。最後に、培養ヒト血管内皮細胞 (HUVEC) を用いた検討では、siRNAによるTcadのノックダウンにより18量体APNのbasolateral側への輸送が顕著に抑制された。 〔総括(Conclusion)〕 これまで我々は、APNが細胞内多包体 (Multivesicular body : MVB) を経由してエクソソームとして再分泌される経路を報告した (JCI Insight. 2018, JCI. 2019)。本研究では新たに、血管内皮細胞 Tcad を介したリサイクリングエンドソームを経由した、transcytosisによる多量体APNの細胞内輸送経路を初めて明らかにした。近年、心筋細胞において非感染状態で1型インターフェロンシグナルの活性化が、心臓リモデリングに関与することが示されている (Mao H, et al. Nat Metab. 2023)。本研究結果は、血管内皮のTcadが、多量体APNの血管内皮細胞を介した血管外組織へのtranscytosisに重要な役割を果たし、生理的・病態的状态下における臓器恒常性の維持に不可欠であることを示す重要な知見と考える。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 塩出 俊亮			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	下村 伸一郎 署名
	副 査	大阪大学教授	田比野 浩 署名
	副 査	大阪大学教授	宮川 繁 署名

論文審査の結果の要旨

本研究は、血中高分子量体アディポネクチン（APN）が血管内皮T-cadherin（Tcad）を介して血管外組織へ移行する分子機構とその生理学的意義を明らかにしたものである。これまでに血管外組織においてTcadを介したAPN集積とそれに伴う臓器保護効果が報告されていたが、血中に存在する高分子量体APNが血管外組織に移行する機構に関しては不明であった。

本研究では、血管内皮特異的T-cad欠損マウスにおいて血中APN濃度の上昇および心筋・骨格筋へのAPN集積低下を示し、心臓における線維化や自然免疫関連経路の亢進を明らかにした。さらに、イヌ腎尿細管上皮細胞MDCK2細胞およびヒト血管内皮細胞HUVECを用いた解析から、Tcadを介したAPNのrecycling endosome経路によるtranscytosisを実証した。

本研究は、血中高分子量体APNが血管内皮細胞においてRecycling endosomeを介してTranscytosisされ、その結果として心筋細胞の恒常性維持に貢献しうることを示した初めての報告である。血管内皮Tcadの発現制御は糖尿病や肥満症などの病態における心血管疾患を含む全身臓器障害に対する新規治療戦略の標的となりえる重要な知見と考える。従って、学位に値するものと認める。